Étude du pH intestinal d'un Collembole (Insecte, Apterygote)

PAR

Willy HUMBERT

Laboratoire de Zoologie et d'Embryologie expérimentale, Université Louis-Pasteur
12, Rue de l'Université, 67000 - Strasbourg (France)

INTRODUCTION

Dans beaucoup de groupes d'Insectes supérieurs, le pH a été étudié aussi bien chez les stades larvaires que chez les adultes notamment chez les Coléoptères, Diptères, Hyménoptères, Lépidoptères, Névroptères et Orthoptères. HOUSE (1965) et WIGGLESWORTH (1965) ont fait à ce sujet une étude récapitulative. Notons que chez ces animaux, le tube digestif a pu être disséqué. La taille de l'espèce que nous nous proposons d'étudier ne nous permet malheureusement pas d'utiliser cette méthode.

Le tube digestif des Collemboles a fait l'objet de nombreuses études surtout anatomiques (BOELITZ, 1933 ; THIBAUD, 1968). ZINKLER (1969) apporte les premiers résultats concernant la physiologie digestive. Par contre il n'existe aucune référence sur le pH intestinal des Collemboles, et même des Aptérygotes.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Notre choix s'est porté sur *Sinella coeca* (SCHÖTT) pour plusieurs raisons : l'absence de pigments permet une observation directe du tube digestif à la loupe binoculaire, le taux de reproduction élevé permet d'avoir des populations importantes et enfin l'anatomie générale de l'espèce est déjà connue. La souche provient d'un pot de fleurs.

Pour les expériences nous mettons les animaux dans des boîtes plastiques hermétiques (hauteur : 5 cm, diamètre : 8 cm) ayant un fond de plâtre ou de

Reçu le 26-XII-72.

sable stérilisé. L'humidité est maintenue constante par un apport régulier d'eau distillée. La nourriture que nous donnons aux Collemboles est préalablement colorée par des indicateurs de pH. Nous avons donc l'avantage d'utiliser une méthode *in vivo.* Bien que les Collemboles soient généralement omnivores (SCHALLER, 1950), nous avons choisi des aliments susceptibles d'être colorés par les indicateurs et de plus appréciés par les animaux. La levure, la fécule, et la pomme ont été retenues. Pour multiplier les observations l'expérience est réalisée avec 50 à 80 animaux par boîte.

Avant l'expérience nous avons fait « jeûner » les animaux durant trois à quatre jours en leur supprimant tout apport de nourriture exogène. Il s'agit en fait d'un « jeûne » partiel qui a l'avantage de ne pas perturber le cycle d'intermue car les animaux peuvent trouver sur le substrat des bactéries chimiosynthétiques (CHRISTIANSEN, 1970). De plus cette dénutrition ne bloque pas la croissance dans la phase juvénile mais la ralentit seulement (BARRA, communication personnelle).

Pour les indicateurs de pH nous utilisons la gamme de CLARK et LOEBS (1916) (produits MERCK) préparée selon MERCK. En expérience préliminaire nous avons mesuré le pH des aliments utilisés : levure : 5,2, fécule : 5,6, pomme : 4,0. On ne pourra donc utiliser que les indicateurs dont le virage se fait à un pH supérieur à celui de l'aliment indiqué. Enfin pour éviter toute influence du substrat nous avons déposé la nourriture sur du papier aluminium. Dès la prise de la nourriture le tube digestif se colore. Beaucoup d'animaux ont été isolés pour suivre l'évolution en fonction du temps. Toutes les expériences ont eu lieu à 20-22° C et elles ont été répétées en moyenne cinq fois par indicateur. La nourriture était changée dès qu'on observait en abondance des excréments à sa surface ou que sa coloration initiale changeait.

RÉSULTATS

La position du tube digestif par rapport à la segmentation externe de l'animal correspond aux données de BOELITZ (1933). Rappelons en néanmoins brièvement la description anatomique (fig. 1). Le tube digestif débute à la pointe de la tête et s'étend jusqu'au 6e segment abdominal. Il se présente sous la forme d'un tube axial et comprend trois parties : l'intestin antérieur ou stomodeum, l'intestin moyen ou mésentéron, l'intestin postérieur ou proctodeum. Le *stomodeum* se compose du pharynx et de l'oesophage et s'étend depuis la bouche jusqu'à la limite du mésothorax et du métathorax. Il se termine par la valvule stomodéale. *Le mésentéron,* cylindrique, beaucoup plus long que le précédent, s'étend jusqu'au milieu du 4e segment abdominal environ, et se termine par la valvule proctodéale (pylorique). Son diamètre varie avec le cycle de la mue. En période d'alimentation, il est beaucoup plus large

---

FIG. 1. — Coupe sagittale de *Sinella coeca* montrant une représentation schématique du tube digestif.

I.a. : Intestin antérieur ; I.m. : Intestin moyen ; I.p. : Intestin postérieur ; th_2 : mésothorax ; th_3 : métathorax ; a_1 - a_6 : segments abdominaux.

A : Anus ; B : Bouche ; EpI : Epithelium intestinal ; LI : Lumière intestinale ; Oe : Oesophage ; Ph : Pharynx ; V.P. Valvule proctodéale ; V.S. : Valvule stomodéale.

FIG. 2. — Recherche du pH avec le Rouge de Phénol.

a, b, c, d : différentes étapes de la progression du bol alimentaire et de zones de pH.

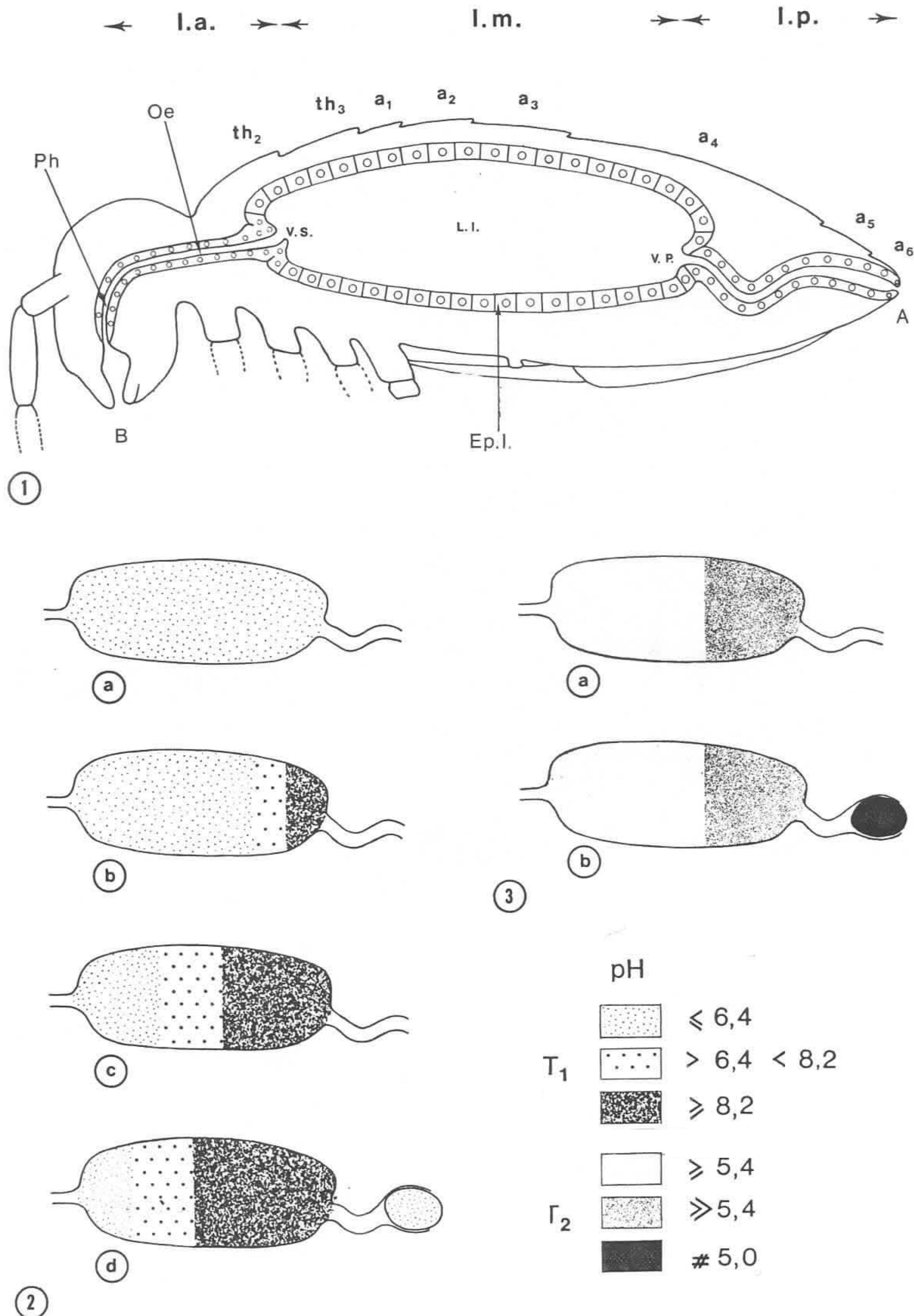


FIG. 3. — Recherche du pH avec le Vert de Bromocrésol.
a, b : deux étapes de la progression du bol alimentaire et des zones de pH.
T_1 : Test avec le Rouge de Phénol.
T_2 : Test avec le Vert de Bromocrésol.

TABLEAU

Valeurs du pH des différentes parties du Tube Digestif de Sinella coeca

P : Pomme ; F : Fécule ; L : Levure ; I.M. 1 : Intestin moyen correspondant à th_3 (métathorax)

Indicateurs	Zone de virage du pH	Aliments utilisés	Observations				pH			
			I.M. 1	I.M. 2	I.P.	Excr.	I.M. 1	I.M. 2	I.P.	Excr.
Vert de Bromocrésol	3,8 : jaune 5,4 : bleu	P	bleu	bleu foncé	vert foncé	vert foncé	⩾5,4	>>5,4	#5,0	#5,0
Pourpre de Bromocrésol	5,2 : jaune 6,8 : pourpre	P.F.	pourpre	pourpre	décoloré à jaune clair	décoloré à jaune clair	⩾6,8	⩾6,8	⩽5,2	⩽5,2
Rouge Neutre	6,8 : rouge bleuâtre 8,0 : jaune orangé	P.F.	rouge vermillon	orange	rouge foncé	rouge foncé	<8,0	⩾8,0	⩽6,8	⩽6,8
Rouge de Phénol	6,4 : jaune 8,2 : rouge	P.F.L.	jaune	orange + rouge	jaune	jaune	⩽6,4	⩽8,2	⩽6,4	⩽6,4
Rouge de Crésol	7,0 : orange 8,8 : pourpre	P.F.	orange	rouge	jaune orange	jaune orange	<8,8	<8,8	<8,8	<8,8
Bleu de Thymol	8,0 : jaune 9,6 : bleu	P.F.L.	jaune	jaune	jaune	jaune	<9,6	<9,6	<9,6	<9,6
RÉSULTATS							<5,4 pH <6,4	⩽8,2 pH <8,8	<5,0 pH ⩽5,2	<5,0 pH ⩽5,2

et a_1 (segment abdominal a_1) ; I.M. 2 : Intestin moyen correspondant aux segments abdominaux a_2, a_3, a_4 ; I.P. : Intestin postérieur ; Excr. : Excréments.

qu'en période de jeûne. Le *proctodeum* se présente sous la forme d'un S et s'étend jusqu'à l'anus ; il possède de nombreux replis qui permettent un élargissement important pour le passage des boulettes d'excréments.

Notons encore que cette expérience ne peut avoir lieu que sur des animaux étant en période d'alimentation. En effet entre deux mues successives, on distingue trois périodes : une période de jeûne après la mue, une période d'alimentation, une période de jeûne avant la mue suivante (THIBAUD, 1968). Chez *Sinella coeca,* nous avons trouvé : jeûne postexuvial : 1-2 jours, période d'alimentation : 16 jours, jeûne préexuvial : 5-6 jours. Ces résultats ont été obtenus sur une trentaine d'animaux élevés séparément (à 13 ± 1° C). Signalons qu'à la température ambiante (20-22° C) l'intermue est considérablement raccourcie : 4 - 5 jours. Les aliments passant trop rapidement dans le pharynx et l'oesophage, il ne nous a pas été possible de déterminer la valeur du pH dans l'intestin antérieur. Nous nous contenterons donc d'étudier le pH des intestins moyen et postérieur. La pomme et la fécule se sont révélées comme étant les meilleurs supports alimentaires pour les indicateurs colorés, la levure se montrant instable au bout de 24 heures. Les résultats sont résumés dans le Tableau ci-dessus. Nous nous limiterons au commentaire de l'expérience avec deux indicateurs : le Rouge de Phénol et le Vert de Bromocrésol.

Le Rouge de Phénol.

La zone de virage du pH est la suivante :

jaune	rouge
pH 6,4	8,2

Ce colorant s'est révélé comme un indicateur très intéressant. Nous imprégnons la nourriture (fécule) avec le colorant. Celle-ci présente la couleur jaune (pH : 5,6) les bols alimentaires traversent rapidement l'oesophage et s'accumulent dans l'intestin moyen. Au bout de 15 à 20 minutes l'intestin moyen est entièrement coloré en jaune (fig. 2 a). Le premier virage se situe dans la région postérieure et se manifeste par une teinte rouge (fig. 2 b). Notons l'existence d'une zone orange intermédiaire entre le jaune et le rouge. Vérifié au pH mètre celle-ci correspond à un pH d'environ 7,0. Cette zone va progresser vers la partie antérieure (fig. 3 c), et après 3 heures il ne reste plus que la partie tout à fait antérieure qui soit colorée en jaune. Dans la proportion de 20 % environ nous avons observé des intestins moyens colorés entièrement en rouge au bout de 4 à 5 heures. Nous avons ensuite isolé des animaux pour déterminer la durée du transit intestinal. Elle semble être de l'ordre de 8 à 12 heures. La partie antérieure de l'intestin moyen présente donc un pH plus acide que la partie postérieure fortement basique. La coexistence de ces deux zones de pH dans l'intestin moyen est un fait remarquable à signaler. Le passage des aliments de l'intestin moyen dans l'intestin postérieur se traduit par un brusque virage du pH ; les aliments passent du rouge vif au jaune (fig. 2 d). Le passage dans l'intestin postérieur est rapide, de l'ordre de 10 minutes. Les excréments sont rejetés à l'extérieur et gardent la même couleur jaune. Nous retrouvons donc l'acidité de la partie antérieure de l'intestin moyen.

Le Vert de Bromocrésol. La zone de virage est la suivante :

jaune	bleu
pH 3,8	5,4

Le Vert de Bromocrésol est un indicateur de choix pour la recherche du pH en zone acide. Comme pour le Rouge de Phénol nous suivons la progression des aliments (colorés par l'indicateur) à travers le tractus intestinal. La partie antérieure de l'intestin moyen se colore en bleu (pH $\geqslant$ 5,4). La partie moyenne et postérieure de l'intestin moyen accuse un bleu très foncé (pH $\geqslant$ 5,4) (fig. 3 a). Dès que les aliments passent dans l'intestin postérieur, la couleur bleu disparaît et on obtient une couleur vert foncé. Vérifiée au pH mètre, cette couleur correspond à un pH d'environ 5,0.

Compte tenu des résultats obtenus avec les autres indicateurs colorés et figurés dans le tableau nous pouvons conclure que l'intestin moyen possède une zone antérieure acide (pH 5,4 - 6,4) et une zone postérieure basique (pH 8,2 - 8,8). L'intestin postérieur et les excréments sont franchement acides. (pH 5,0 - 5,2).

Dans l'expérience avec le Rouge de Phénol la « migration » de la zone basique de la partie postérieure vers la partie antérieure de l'intestin moyen amène un certain nombre de questions. Y a-t-il diffusion d'ions OH^- de la

partie postérieure vers la partie antérieure, la digestion commence-t-elle à la partie terminale de l'intestin moyen ? Ces questions n'ont pour le moment pas de réponses.

DISCUSSION ET CONCLUSIONS

Quelles sont les critiques que nous pouvons apporter à cette méthode de détermination et par là-même aux valeurs de pH trouvées ?

Les indicateurs colorés peuvent subir l'erreur de sel (le pH se rapproche alors davantage de la neutralité) mais cette erreur est très faible (2e décimale) (VERAIN et CHAUMETTE, 1930). Ils sont également influencés par l'erreur de protéines (ce qui correspond à un remaniement de la molécule par l'indicateur). VERAIN et CHAUMETTE préconisent l'emploi de la série monochrome de MICHAELIS, non influencée par les protéines, mais cette méthode ne nous a pas donné de résultats satisfaisants. CLARK et LOEBS (1916) ont signalé que les différences entre les valeurs de pH obtenues par cette méthode colorimétrique que nous venons d'utiliser et celles obtenues par méthode électrométrique sont faibles.

Il faut enfin signaler l'erreur personnelle possible dans l'appréciation de la teinte. Mais cette erreur est rendue minime par le contrôle des différentes teintes au pH mètre. Cette méthode a par ailleurs déjà été utilisée avec succès dans la détermination du pH intestinal notamment chez les Termites (KOVOOR, 1967).

Certains auteurs qui ont étudié le pH intestinal chez les Insectes ont suggéré que celui-ci était en relation avec le groupe taxonomique de l'animal.

Ainsi SHINODA (1930) groupe les Insectes par ordre de décroissance du pH de l'intestin moyen : Lépidoptères : 8,4 - 9,8 ; Coléoptères : 8,4 - 9,6 ; Diptères : 6,8 - 7,8 ; Orthoptères : 5,6 - 7,2 ; WATERHOUSE (1949) signale l'alcalinité particulièrement élevée chez les Lépidoptères aussi bien chez les larves que chez les adultes. SHRIVASTAVA et SRIVASTAVA (1961) pensent à l'existence d'un système tampon qui maintient le pH constant dans un type donné. Les différents groupes auraient différents mécanismes de tampon. D'autres auteurs pensent que le pH est en relation avec le mode de nutrition. Ainsi avec une alimentation faite exclusivement de protéines et de glucides, WIGGLESWORTH (1927) a trouvé les valeurs de 6,3 et 4,8 dans le jabot, 6,4 et 6,3 dans l'estomac de *Blatella germanica*. L'acidité serait due à la formation d'acide lactique par les glucides. SWINGLE (1931) et GRAYSON (1951, 1958) cités par HOUSE H. L. (1965) montrent que l'intestin moyen est plus acide chez les espèces phytophages et celles dont l'alimentation est composée essentiellement de glucides alors que chez les espèces omnivores et carnivores on observe l'inverse. SRIVATAVA et MATHUR (1966), dans leur étude sur les larves de Lépidoptères, ainsi que SRIVASTAVA et SRIVASTAVA (1961) sur les Coléoptères concluent que la nature de l'alimentation ne change pas le pH de l'intestin moyen mais qu'une adaptation à un régime alimentaire particulier peut influencer les zones de pH. Chez *Sinella coeca* nous n'avons par ailleurs pas observé une influence des trois aliments utilisés sur le pH.

Notons encore que chez les Collemboles la présence de bactéries dans l'intestin moyen (SINGH, 1963) peut influencer la valeur du pH.

Quelles que soient les hypothèses qu'on puisse formuler quant à la signification du pH (relation avec la position taxonomique ou le régime alimentaire) il est un fait certain que le pH est lié à l'activité digestive et détermine le mode d'action enzymatique. Les travaux de ZINKLER (1969) sur les Collemboles ont retenus toute notre attention. A partir de broyats d'individus entiers il étudie l'hydrolyse des glucides et en particulier les relations entre le pH et la valeur optimale de l'hydrolyse de quelques glucides. Chez *Tomo-*

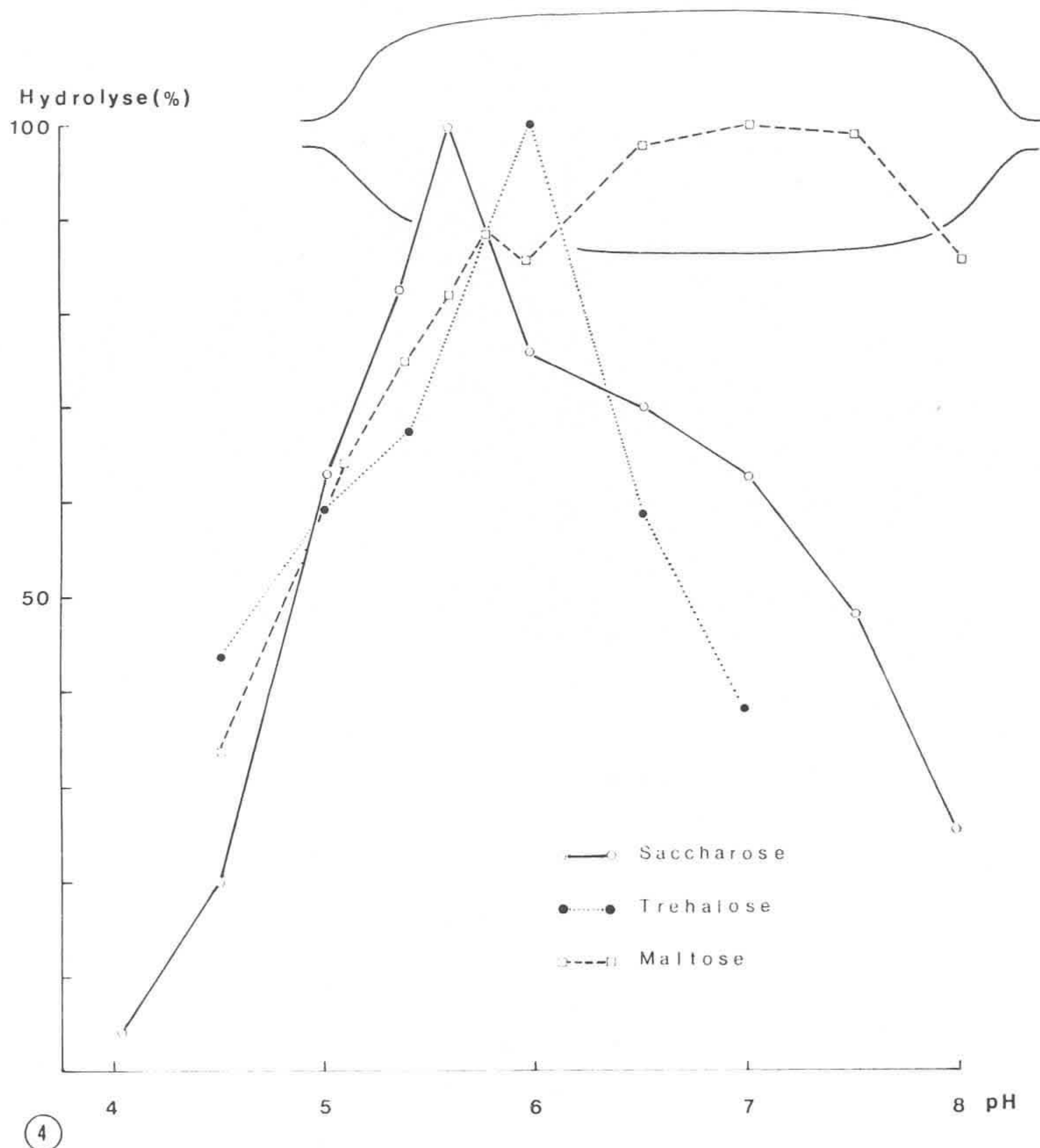


FIG. 4. — Représentation de la localisation hypothétique du spectre d'action des carbohydrases chez *Sinella coeca*. (D'après ZINKLER, modifié). L'optimum de l'hydrolyse du saccharose et du tréhalose se fait respectivement à pH 5,6 et 6,0 et se localiserait donc dans la partie antérieure de l'intestin moyen. Pour le maltose l'optimum de l'hydrolyse se situe à pH : 7,0 et se situerait dans la partie moyenne de l'intestin moyen.

cerus flavescens il a trouvé les valeurs suivantes : saccharose : 5,6 ; Tréhalose : 6,0 ; Maltose : 7,0. La sécrétion des enzymes responsables de cette hydrolyse se ferait dans l'intestin moyen. Selon ZINKLER la cellobiose ne peut être hydrolysée par toutes les espèces. Il a trouvé la cellobiase chez *Onychiurus armatus* et *Folsomia quadrioculata*, espèce ingérant beaucoup de cellulose. Il conclut qu'il y a une relation entre le mode de nutrition et la garniture enzymatique. Compte tenu des valeurs de pH trouvées chez *Sinella coeca* et des données de ZINKLER nous pouvons faire l'hypothèse suivante : le saccharose et le tréhalose seraient hydrolysés dans la partie la plus antérieure de l'intestin moyen alors que pour le maltose l'optimum de l'hydrolyse se ferait dans la partie moyenne. Ceci nous permettrait de réaliser le schéma suivant (courbes et valeurs de ZINKLER) :

Cette hypothèse demande à être vérifiée en même temps qu'il faudrait savoir si les différents enzymes sont mélangés dans l'intestin moyen ou s'ils sont localisés dans des zones bien précises.

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier vivement le D[r] J. A. BARRA pour ses conseils et nombreux encouragements.

SUMMARY

The pH of the digestive tract of *Sinella coeca* (Collembola) could be determined by direct observations *in vivo*. pH indicators, from the colorimetric series of CLARK and LUBS were added to the food (yeast, starch, apple). The most interesting indicator was Phenol Red. We found that the intestinal pH is acidic in the first region of the mid-intestine (5,4 - 6,4), whereas it is alkaline in the second region (8,2 - 8,8). Then it decreases very rapidly in the posterior intestine and becomes acidic. Intestinal pH was thought to be correlated with taxonomic position or with the feeding habit of the insect. It is surely bound with digestive activity.

BIBLIOGRAPHIE

BOELITZ (Z.), 1933. — Beiträge zur Anatomie und Histologie der Collembolen. *Zool. Jahr.*, **57**: 375-432.

CHRISTIANSEN (K.), 1970. — Survival of Collembola on clay substrates with or without food added. *Ann. Speleo.*, **25**, 4: 849-852.

CLARK (W. M.) et LUBS (H. A.), 1916. — The colorimetric determination of the hydrogen-ion concentration of bacteriological culture media. *Journ. Wash. Acad. Sci.*, **6**: 483-489.

HOUSE (H. L.), 1965. — The physiology of Insecta. *In Rockstein, 2, 830-833. Academic Press, New York.*

KOVOOR (J.), 1967. — Le pH intestinal d'un Termite supérieur (*Microcerotermes edendatus,* Was., Amitermitinae). *Insectes sociaux,* **14**, 2: 157-160.

SCHALLER (F.), 1950. — Biologische Beobachtungen an humusbildenden Bodentieren insbesondere an Collembolen. *Zool. Jb.*, **78**, 1: 506-525.

SHINODA (O.), 1930. — Contributions to the knowledge of intestinal secretion of Insects. *J. Biochem., Tokyo*, **11**: 345-347.

SINGH (S. B.), 1970. — A preliminary observation on the gut contents of *Neanura muscorum* (Templeton) (Collembola, Neanuridae). *Entom. mont. Mag.*, **107**: 85-87.

SRIVASTAVA (B. K.) et MATHUR (L. M. L.), 1966. — On the hydrogen-ion concentration in the alimentary canal and blood of phytophagous larval Lepidoptera, *Indian. J. Ent.*, **28**, 4: 422-426.

SRIVASTAVA (U. S.) et SRIVASTAVA (P. D.), 1961. — On the hydrogen-ion concentration in the alimentary canal of the Coleoptera. *Beitr. Ent.*, **11**, 1/2: 15-20.

THIBAUD (J. M.), 1968. — Cycle du tube digestif lors de l'intermue chez les Hypogastruridae (Collemboles) épigés et cavernicoles. *Rev. Ecol. Biol. Sol*, **5**, 4: 647-655.

VERAIN (M.) et CHAUMETTE (J.), 1930. — Le pH en Biologie. *Masson.*

WATERHOUSE (D. F.), 1949. — The hydrogen-ion concentration in the alimentary canal of larval and adult Lepidoptera. *Aust. J. Sci. Res.*, **2**: 428-437.

WIGGLESWORTH (V. B.), 1927. — Digestion in the cockroach. The hydrogen-ion concentration in the alimentary canal. *Biochem. J.*, **21**: 791-796.

WIGGLESWORTH (V. B.), 1965. — The principles of Insect Physiology. *Methuen. London.*

ZINKLER (D.), 1969. — Vergleichende Untersuchungen zum Wirkungsspektrum der Carbohydrasen von Collembolen (Apterygota). *Verhandl. Deutsch. Zool. Ges*, 640-644.